

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1 Deskripsi

P. aeruginosa merupakan kuman patogen oportunistik yang dapat menyebabkan keadaan yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis maupun pasien yang memiliki tingkat imunitas yang sangat rendah. Umumnya kuman ini sering ditemukan sebagai penyebab infeksi nosokomial di rumah sakit khususnya di *Intensive Care Unit (ICU)* (Putri & Rasyid, 2014).

2.1.2 Taksonomi

Pemberian nama bakteri *P.aeruginosa* memakai sistem penamaan binomial. Klasifikasi dari *P.aeruginosa* adalah (Siegrist,2010) :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Pseudomonadales

Family : Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas

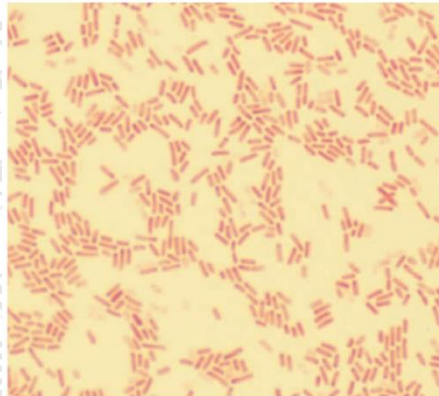
Species : aeruginosa

2.1.3 Morfologi dan Identifikasi Bakteri

a. Ciri Khas Organisme

P. aeruginosa bersifat motil dan berbentuk batang, dengan ukuran sekitar $0.6 \times 2 \mu\text{m}$. Bakteri ini tergolong kelompok bakteri gram negatif dan dapat muncul dalam bentuk tunggal, berpasangan atau kadang-kadang dalam bentuk rantai pendek. (Brooks *et al.*, 2013)

(Brooks *et al.*, 2013)



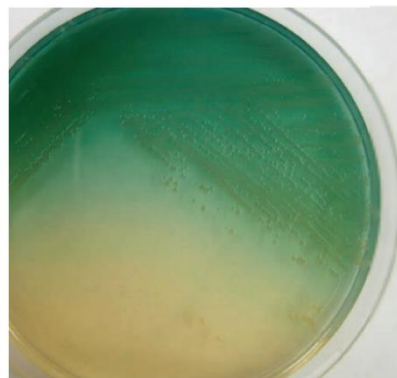
Gambar 2.1 *P. aeruginosa* dengan Pengecatan Gram

b. Biakan

P. aeruginosa adalah bakteri obligat yang dapat tumbuh dengan mudah pada berbagai jenis media pembiakan, terkadang mengeluarkan bau manis atau menyerupai bau buah-buahan seperti anggur atau seperti jagung. Beberapa strain menyebabkan hemolisis darah. (El-Fouly *et al.*, 2015; Brooks *et al.*, 2013)

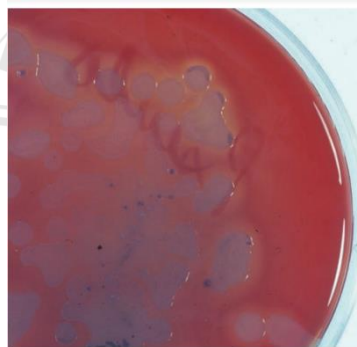
P. aeruginosa membentuk koloni besar dan halus dengan permukaan rata dan meninggi (*fried egg apperance*) dan koloni halus dan mukoid yang biasanya didapat dari sekresi saluran pernafasan dan saluran kemih (Todar, 2012). Bakteri ini juga sering menghasilkan

pigmen piosianin, pigmen kebiru-biruan yang tidak berfluoresensi, yang berdifusi kedalam agar. Spesies *Pseudomonas* yang lain tidak menghasilkan piosianin . Banyak strain *P.aeruginosa* juga memproduksi pigmen pioverdin yang befluoresensi, yang memberikan warna kehijauan pada agar. Beberapa strain menghasilkan pigmen piorubin yang berwarna merah gelap atau pigmen piomelanin yang berwarna hitam (Brooks *et al.*, 2013).



(Brooks *et al.*, 2013)

Gambar 2.2 *P. aeruginosa* memproduksi pigmen pioverdin yang memberikan warna kehijauan pada agar dan pigmen piosianin yang berwarna kebiru-biruan.



(Brooks *et al.*, 2013)

Gambar 2.3 Koloni *P. aeruginosa* pada media *Blood Agar Plate* menunjukkan adanya hemolisis.

P. aeruginosa pada biakan dapat membentuk berbagai jenis koloni. Tiap jenis koloni dapat mempunyai aktivitas biokimia dan

enzimatik berbeda serta pola kepekaan antibakteri yang berbeda pula. Kadang tidak jelas apakah suatu jenis koloni merupakan strain *P. aeruginosa* yang berbeda atau varian dari strain yang sama. (Sinulingga, 2015)

c. Sifat Pertumbuhan

P. aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C (Pratiwi, 2013). Pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *pseudomonas* lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri ini bersifat oksidase positif, tidak memfermentasi laktosa dan dengan mudah dibedakan dengan bakteri *lactose-fermenter*, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasarkan morfologi koloni, sifat oksidase-positif, adanya pigmen yang khas (Kasper *et al.*, 2015).

2.1.4 Struktur Antigen dan Toksin

Pili menjulur dari permukaan sel dan membantu pelekatan pada sel epitel pejamu. Eksopolisakarida merupakan komponen yang menyebabkan koloni mukoid terlihat pada biakan pasien dengan fibrosis kistik. Lipopolisakarida, yang ada dalam berbagai imunitipe, bertanggung jawab pada kebanyakan sifat endotoksik organisme (Cigana *et al.*, 2011). *P. aeruginosa* dapat digolongkan berdasarkan imunitipe lipopolisakarida dan kepekaannya terhadap piosin (bakteriosin). Sebagian besar isolat *P. aeruginosa* yang berasal dari infeksi klinik menghasilkan enzim ekstraseluler, termasuk elastase, protease, dan dua hemolisin (fosfolipase C tidak tahan panas dan glikolipid tahan panas) (Rezki, 2016).

Banyak strain *P.aeruginosa* menghasilkan eksotoksin A, yang dapat bereaksi setiap kali berikatan dengan sel inang sehingga dapat menyebabkan nekrosis jaringan dan bersifat letal untuk binatang jika disuntikan dalam bentuk murni. Eksotoksin tersebut menghambat sintesis protein melalui suatu mekanisme kerja yang serupa seperti mekanisme toksin difteri, walaupun struktur kedua toksin tersebut tidak sama. Antitoksin terhadap eksotoksin A ditemukan pada beberapa serum manusia, termasuk pasien yang telah sembuh dari infeksi berat *P. aeruginosa*.(Sinulingga, 2015)

2.1.5 Patogenesis

Bakteri patogen yang bersifat oportunistik seperti *P.aeruginosa*, kemunculan penyakit dimulai dengan adanya gangguan atau kelainan dari sistem pertahanan tubuh yang normal (Todar, 2012). Bakteri ini menempel dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik. (Brooks *et al.*, 2013)

Kebanyakan infeksi oleh *Pseudomonas* bersifat invasif dan toksinogenik. Infeksi pseudomonas yang paling utama, terjadi dalam 3 fase berbeda, yaitu : (1) perlekatan bakteri dan kolonisasi; (2) invasi lokal; (3) penyebaran penyakit sistemik. Faktor penentu patogenitas sangat berperan dalam fase-fase ini dan juga memberikan pengaruh utama pada sindroma-sindroma khas yang muncul bersama dengan penyakit yang timbul (Todar, 2012).

2.1.6 Manifestasi Klinis Infeksi

P.aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar ,menimbulkan pus hijau kebiruan, meningitis bila masuk lewat punksi

lumbal, dan infeksi saluran kemih bila masuk bersama kateter dan instrumen lain atau dalam larutan untuk irigasi (Brooks *et al.*, 2013). Keterlibatan saluran pernapasan, terutama dari respirator yang terkontaminasi, mengakibatkan pneumonia yang disertai nekrosis. Infeksi telinga paling serius yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* adalah otitis eksterna maligna dan nekrosis otitis eksterna (Kasper *et al.*, 2015). Otitis eksterna ringan sering terjadi pada perenang sedangkan otitis eksterna invasif maligna pada penderita diabetes (Brooks *et al.*, 2013). Infeksi mata akibat *P. aeruginosa* terjadi terutama sebagai akibat dari inokulasi langsung ke jaringan setelah terjadi trauma atau kerusakan kornea oleh karena lensa kontak. Keratitis dan ulkus kornea adalah jenis penyakit mata yang paling umum dan sering dikaitkan dengan lensa kontak (Kasper *et al.*, 2015).

Pada bayi atau orang yang lemah dapat menyerang aliran darah dan mengakibatkan sepsis yang fatal, biasanya terjadi pada penderita leukemia atau limfoma yang mendapat obat antineoplastik atau terapi radiasi, dan pada penderita dengan luka bakar berat (Brooks *et al.*, 2013)

Pada sebagian besar infeksi, gejala dan tanda-tandanya tidak spesifik dan berkaitan dengan organ yang terlibat. Terkadang, verdoglobulin (suatu produk pemecahan hemoglobin) atau pigmen yang berfluoresen dapat dideteksi pada luka, luka bakar, atau urin dengan penyinaran fluoresen ultraviolet (Brooks *et al.*, 2013). Nekrosis hemoragik pada kulit sering terjadi pada sepsis akibat *P. aeruginosa*. Lesi yang disebut ektima gangrenosum ini dikelilingi oleh eritema, warna luka yang awalnya berwarna merah muda berubah menjadi ungu kemudian nekrosis (Kasper *et al.*, 2015). *P. aeruginosa*

dapat dilihat pada spesimen dari lesi ektima yang diberi pewarnaan Gram, dan biakannya positif (Brooks *et al.*, 2013). Penyakit yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* selain pyoderma gangrenosum pada pasien neutropenia, folikulitis dan lesi papular atau vesikular lainnya karena telah dijelaskan secara luas dan secara kolektif sebagai dermatitis. Beberapa wabah telah dikaitkan dengan spa dan kolam renang. Pertumbuhan *P. aeruginosa* di rumah dan di lingkungan rekreasi harus dikontrol dengan klorinasi air yang tepat untuk mencegah wabah tersebut (Kasper *et al.*, 2015).

2.1.7 Diagnosis Laboratorium

1. Spesimen

Spesimen diambil dari lesi kulit, urin, pus, darah, cairan spinal, sputum, dan bahan lain harus diambil sesuai dengan jenis infeksi (Brooks *et al.*, 2013).

2. Hapusan

Batang gram-negatif sering terlihat pada hapusan. Tidak ada karakteristik morfologi spesifik yang membedakan *Pseudomonas* dari enterik atau batang gram negatif lain (Brooks *et al.*, 2013).

3. Biakan

Spesimen ditanam pada lempeng agar darah dan media deferensial yang biasanya digunakan untuk membiakkan bakteri batang gram-negatif enterik. *Pseudomonas* tumbuh cepat pada sebagian besar media tersebut, tetapi mungkin tumbuh lebih lambat dibanding enterik. *P. aeruginosa* tidak meragikan laktosa dan mudah dibedakan dari bakteri

peragi laktosa. Biakan merupakan tes spesifik dari diagnosis infeksi *P. aeruginosa* (Mardiana, 2011).

2.1.8 Epidemiologi dan Penanganan

Laporan laoratorium tentang bakterimia merupakan indikator penting dari penyakit infeksi berat. Di Amerika *P. aeruginosa* menduduki urutan ketujuh yang paling sering menyebabkan bakterimia, dengan prevalensi keseluruhan dari infeksi adalah 4 %. Angka kejadian dari infeksi bakterimia adalah 7,3 per 100.000 populasi. (Loveday *et al.*, 2014)

Bakteri *P.aeruginosa* adalah patogen nosokomial yang utama, sehingga metode untuk mengendalikan infeksi ini mirip dengan metode untuk patogen nosokomial lainnya. Kemampuannya untuk tumbuh subur pada lingkungan yang basah menuntut perhatian khusus pada bak cuci, bak air, pancuran, bak air panas, dan daerah basah yang lain (Brooks *et al.*, 2013).

2.1.9 Pengobatan dan Resistensi

Infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* secara klinis tidak boleh diobati dengan terapi obat tunggal karena bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten jika diberikan obat tunggal. Golongan penisilin dengan spektrum yang luas seperti piperasiklin aktif melawan *P.aeruginosa* jika dikombinasi dengan golongan aminoglikosida, biasanya tobramisin (Brooks *et al.*, 2013).

Obat lain yang aktif melawan *P. aeruginosa* adalah aztreonam ; golongan karbapenem seperti imipenem atau meropenem; dan golongan florokuinolon, termasuk siprofloksasin ; golongan sefalosporin seperti ceftazidime, cefoperazone, dan cefepime. Ceftazidime sering digunakan dengan aminoglikosida untuk terapi utama infeksi *P. aeruginosa* , khususnya

pada pasien yang mengalami neutropenia (Milla, 2016)

Pola kepekaan *P.aeruginosa* bervariasi secara geografis, dan pengujian mengenai pola sensitifitas bakteri harus dilakukan untuk pemilihan terapi antibakteri (Yayan, Ghebremedhin & Rasche, 2015). *Multidrug resistance* telah menjadi masalah utama dalam manajemen infeksi nosokomial atau HAI (*Hospital-Acquired Infection*) yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* karena akuisisi kromosom β -laktamase, enzim extended-spectrum β -laktamase (ESBL), mutasi pada kanal porin dan pompa efflux (Streeter & Katouli, 2016).

2.2 Pisang Kepok

2.2.1 Definisi

Pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) adalah buah tropis dari keluarga Musaceae yang berasal dari daerah tropis di Asia Tenggara. Memenuhi sekitar 16% dari total buah di seluruh dunia sebagai produksi buah terbesar kedua yang dihasilkan setelah jeruk. Buah ini menjadi salah satu yang paling banyak dari buah-buahan tropis yang tumbuh, dibudidayakan di lebih dari 130 negara. (Sirajudin *et al.*, 2014).

2.2.2 Taksonomi Pisang Kepok

Kedudukan tanaman pisang kepok dalam sistematika taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut (Shenvi *et al.*, 2015).

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Tracheophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Ordo : *Zingiberales*
Family : *Musaceae*

Genus : *Musa*

Species : *Musa paradisiaca L.*

2.2.3 Jenis Pisang

Di Indonesia terdapat kurang lebih 230 jenis pisang, namun tidak semua jenis pisang yang ada dapat diperoleh di pasaran. Secara garis besar, jenis pisang dibagi menjadi empat:

- 1) Pisang yang dimakan buahnya tanpa dimasak yaitu *M. paradisiaca* var *Sapientum*, *M. nana* atau disebut juga *M. cavendishii*, *M. sinensis*.

Misalnya pisang ambon, susu, raja, cavendish, barangan dan mas.

- 2) Pisang yang dimakan setelah buahnya dimasak yaitu *M. Paradisiaca forma typica* atau disebut juga *M. paradisiaca normalis*. Misalnya pisang nangka, tanduk dan kepok.

- 3) Pisang berbiji yaitu *M. brachycarpa* yang di Indonesia dimanfaatkan daunnya. Misalnya pisang batu dan klutuk.

- 4) Pisang yang diambil seratnya misalnya pisang manila (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2012)

2.2.4 Morfologi Pisang Kepok

Karakterisasi morfologi Pisang Kepok adalah sebagai berikut

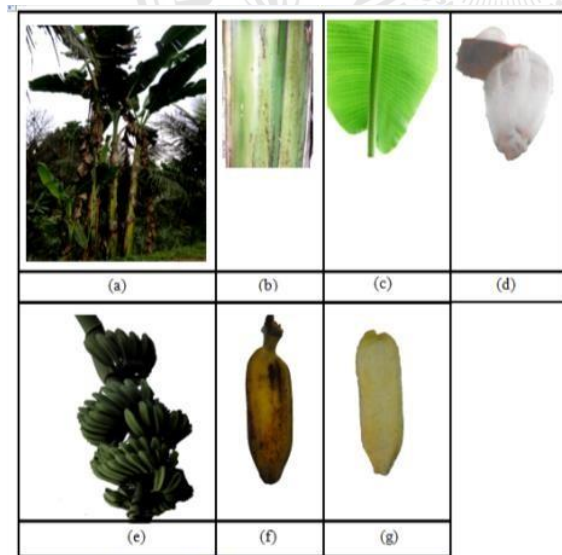
(Ambarita, Bayu & Setiado, 2015) :

Tabel 2.1: Morfologi pisang kepok

No	Parameter	Karakter
1	Tinggi batang	≥3 m
2	Aspek batang	Normal

3	Warna batang	Hijau
4	Ketegakan daun	Sedang
5	Kenampakan permukaan daun	Mengkilat
6	Bentuk pangkal daun	Kedua sisinya membulat
7	Warna punggung tulang daun	Hijau kekuningan
8	Panjang tangkai tandan	31-60 cm
9	Posisi tandan	Menggantung bersudut 45 derajat
10	Bentuk tandan	Spiral
11	Kenampakan tandan	Longgar
12	Bentuk jantung	Bulat
13	Bentuk pangkal braktea	Berbahu kecil
14	Bentuk ujung braktea	Membulat dan pecah
15	Warna luar braktea	Merah keunguan
16	Posisi buah	Lurus terhadap tangkai
17	Jumlah sisir per tandan	4-7
18	Jumlah buah per sisir	13-16
19	Panjang buah	≤ 15 cm
20	Bentuk buah	Lurus
21	Ujung buah	Runcing
22	Permukaan tangkai buah	Berbulu
23	Warna kulit buah belum masak	Hijau
24	Warna kulit buah masak	Kuning
25	Warna daging buah masak	Putih

(Ambarita, Bayu & Setiado, 2015)



Karakter morfologi pisang Kepok :

- (a) pohon pisang Kepok
- (b) batang
- (c) daun
- (d) jantung
- (e) tandan
- (f) buah
- (g) daging buah.

Gambar 2.4 : Morfologi pisang kepok

2.2.5 Kandungan dan Manfaat Pisang Kepok

Pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) merupakan buah tropis yang sudah

tidak asing lagi, merupakan sumber makanan penting yang menghasilkan energi dan dikonsumsi sebagai makanan penutup (Ighodaro, 2012) .

Hampir seluruh bagian tanaman pisang kepok bisa digunakan dan memberikan manfaat, seperti bunga,jantung pisang,buah pisang baik yang sudah matang maupun yang belum matang,daun dan juga batangnya. Ekstrak dan kandungan senyawa aktif bagian-bagian tanaman pisang kepok tersebut telah digunakan untuk pengobatan sejumlah besar penyakit. (Lakhsmi *et al.*, 2015)

Berbagai bagian tanaman pisang kepok seperti daun, akar dan bunga telah digunakan untuk tujuan pengobatan. (Asuquo & Udobi, 2016). Getah tanaman telah digunakan sebagai obat epilepsi, histeria,disentri dan diare, sedangkan akar sebagai obat cacing, dan buahnya digunakan sebagai obat pencakar ringan (Okareh, Adeolu, & Adepoju, 2015).

Buah pisang kepok telah dilaporkan memiliki kandungan serat yang tinggi, mampu menurunkan kolesterol dan membantu untuk meringankan sembelit sehingga bisa digunakan sebagai pencegahan kanker usus besar (Asuquo & Udobi, 2016). Sumber lain menyatakan bahwa daging buah pisang kepok bermanfaat sebagai anti ulkus, penyembuh luka, hepatoprotektif, analgesik, antioksidan dan merangsang pertumbuhan rambut (Lakhsmi, 2015).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Velumani (2016) , kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, terpenoid. Alkaloid, flavanoid dan tanin bermanfaat sebagai antioksidan. Alkaloid juga berguna sebagai analgesik, antispasmodik dan

bakterisidal. Flavonoid dilaporkan mempunyai efek menghambat berbagai macam virus dan juga telah terbukti sebagai antibakteri.

Tabel 2.2 Kandungan kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*)

S.NO	PHYTOCHEMICALS	WATER	ETHANOL	CHLOROFORM
1	Test for Alkaloids	+	+	+
2	Test for Flavonoids	+	+	-
3	Test for Tannins	+	+	-
4	Test for Saponis	+	+	+
5	Test for Terpenoids	+	+	+

(Velumani,2016)

Aboul-Enein *et al.* (2016) melakukan penelitian untuk mengetahui komposisi kimia dan senyawa bioaktif dalam ekstrak kulit pisang *Musa pardisiaca L.*, serta mengevaluasi aktivitas antioksidan dan antibakteri. Hasil penelitian tersebut, dapat diketahui kandungan dari senyawa fenol, flavonoid dan tanin dari kulit pisang per gram. Kandungan total fenol pada ekstrak methanol tercatat sebanyak 17.89 mg/g DW, hasil tersebut merupakan kandungan tertinggi dibandingkan ekstrak lain yaitu aseton, etanol dan aquades. Sama halnya dengan senyawa flavonoid dan tanin, kandungan tertinggi didapatkan pada ekstrak metanol yaitu 21.04 mg/g DW dan 24.21 mg/g DW. Sehingga dari hasil tersebut dapat disimpulkan, senyawa tanin merupakan kandungan tertinggi pada kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) jika dibandingkan dengan senyawa flavonoid dan fenol.

Tabel 2.3 Komposisi senyawa aktif kulit pisang kepok (*Musa paradisica L.*)

Sample	Extracts	TP (mg/g DW)	TF (mg/g DW)	TT (mg/g DW)
Banana Peels	Aqueous	9.89 ^c ± 0.16	8.56 ^d ± 0.22	14.69 ^d ± 0.34
	Methanol	17.89 ^a ±	21.04 ^a ±	24.21 ^a
	80%	0.16	0.28	±0.17
	Ethanol 80%	15.21 ^b ±	18.52 ^b ±	17.66 ^b ±
		0.09	0.06	0.34
	Acetone 80%	15.44 ^b ±	16.15 ^c ±	15.90 ^c ±
		0.19	0.28	0.28
LSD		0,41	0,60	0,75

(Aboul-Enein *et al.*, 2016)

Menurut Zahid *et al.* jantung pisang mengandung alkaloid, flavonoid, lignin, karbohidrat. Adeolu & Enesi (2013) melakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan kimia, vitamin dan mineral dari jantung tanaman pisang kepok (*Musa paradisica L.*). Kandungan mineral yang tinggi diperoleh dari sampel dari penelitian tersebut. Kandungan yang paling tinggi yaitu sodium, kalsium, fosfor dan potasium, sedangkan kandungan besi dan magnesiumnya rendah. Kandungan potasium yang tinggi dalam sampel jantung pisang bermanfaat sebagai bahan baku industri sabun tradisional dan juga dalam perawatan keasaman tanah. Kalsium dan fosfor sangat penting dalam pembentukan tulang dan gigi yang kuat, pertumbuhan, menjaga agar saraf dan aktivitas otot tetap normal, pembekuan darah, fungsi jantung dan metabolisme sel.

Secara empiris air batang pisang kepok banyak digunakan sebagai pengobatan untuk menurunkan panas. Berdasarkan hasil pengujian fitokimia pada air batang pisang kepok (*Musa paradisica L.*), menunjukkan bahwa uji tanin, alkaloid, dan saponin memberikan hasil yang positif sedangkan uji

flavonoid dan steroid memberikan hasil negatif. Hasil penelitian tersebut,air batang pisang kepok mengandung senyawa fitokimia tanin, alkaloid dan saponin dan memiliki efek antipiretik (Maya,2015).

Hasil penelitian yang dilakukan Zahid *et al.* (2015) , bunga pisang kepok mengandung senyawa alkaloid,glikosida,resin,flavonoid,protein,triterpenoid dan steroid. Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak metanol dan etanol bunga pisang kepok banyak mengandung senyawa glikosida dan fenol. Pada ekstrak ini juga menunjukkan adanya flavonoid dan saponin,seangkan dengan pelarut aquades ekstrak bunga pisang kepok mengandung glikosida,fenol dan banyak mengandung flavonoid,namun senyawa saponin tidak terdeteksi dengan ekstrak aquades (Rao *et al.*, 2016). Bunga dari tanaman pisang kepok ini dimanfaatkan sebagai astringent (Okareh, Adeolu, & Adepoju, 2015).

Daun pisang kepok mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, glikosida, terpen, gula deoksi, flavonoid dan karbohidrat. Jus daun pisang kepok digunakan dalam pengobatan luka dan gigitan serangga (Asuquo dan Udobi, 2016).

Akar tanaman pisang kepok mengandung aukubin (glikosida) dan apigenin (flavonoid) yang telah dipelajari secara luas untuk berbagai efek mereka pada peradangan. Secara medis akar tanaman pisang kepok digunakan sebagai antibakteri, penangkal racun dan antiseptik. Rebusan akar digunakan dalam pengobatan berbagai keluhan termasuk diare (Oyewole *et al.*, 2015).

2.2.6 Mekanisme Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Kepok

2.2.6.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid pada ekstrak juga mempunyai sifat antibakteri.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Rahim dkk., 2014). Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Rijayanti, Luliana & Trianto, 2014)

Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Ngajow, Abidjulu, & Kamu, 2013). Penelitian lain menyatakan mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase (Rijayanti, Luliana & Trianto, 2014).

Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul

(Lestari, Rosyid dan Wahyudin, 2016).

2.2.6.2 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa. Mekanisme antibakteri senyawa alkaloid diduga dengan cara menghambat sintesis dinding sel serta merusak komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding selnya tidak terbentuk secara utuh. Senyawa alkaloid akan mengganggu terbentuknya ikatan silang penyusun peptidoglikan (Maya,Ibrahim & Lisdiana, 2015).

2.2.6.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam dan bersifat antibakteri. Saponin berfungsi sebagai antibakteri dengan jalan menghambat stabilitas dari membran sel tubuh bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri hancur. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang berfungsi meningkatkan tegangan permukaan pada dinding sel bakteri. Dinding sel akan mengalami peregangan yang sangat kuat dan kemudian mengakibatkan kerusakan membran sel yang pada akhirnya menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting untuk pertahanan hidup bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Rosyidah,Aziz dan Romas, 2015).

2.2.6.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang mempunyai sifat antibakteri. Tanin memiliki berat molekul tinggi dan mengandung cukup

gugus hidroksil dan gugus lain yang cocok untuk membentuk kompleks kuat dengan protein dan makromolekul lain. Mekanisme antibakteri yang dijalankan oleh tanin adalah dengan menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA (*Deoxiribonucleic Acid*) topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Putri, 2016).

2.3 Metode Pengujian Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antibakteri. Disisi lain, metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (Brooks *et al.*, 2013).

2.3.1 Metode Dilusi

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal, biasanya dalam $\mu\text{g/ml}$, suatu bahan antibakteri dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme tertentu dengan menggunakan media agar atau *broth* (Polapa, 2015).

Bahan antibakteri dimasukkan ke dalam media perbenihan bakteri yang padat atau cair. Media perbenihan kemudian ditanami dengan bakteri uji dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati terjadinya kekeruhan pada tabung (Soleha, 2015).

Keuntungan uji dilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang

diuji (Martiasih, 2014).

Metode dilusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu :

- a. Metode dilusi cair/pengenceran tabung/ *Broth Dilution Test (Serial Dilution)*

Larutan zat antibakteri dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian diencerkan dengan medium cair berturut-turut pada tabung yang disusun dalam satu deret hingga konsentrasi terkecil yang dikehendaki. Tiap tabung (yang berisi campuran media dan larutan zat antibakteri dengan berbagai konsentrasi tersebut) ditanami dengan suspensi bakteri yang mengandung kira-kira 10^5 – 10^6 CFU/mL, selanjutnya dibiakan dalam media tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Lenny, 2016). Pertumbuhan bakteri diamati dengan cara melihat kekeruhan didalam tabung tersebut, yang disebabkan oleh inokulum bakteri. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM (Pratiwi, 2008)

Penentuan KBM dilakukan dengan cara menanam bakteri pada



perbenihan cair yang digunakan untuk KHM ke dalam *nutrient agar* kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. KBM adalah ketika tidak terjadi pertumbuhan lagi pada agar (Soleha, 2015)

(Putri, 2016)

Gambar 2.8 : Hasil uji antibakteri dengan metode dilusi cair setelah diinkubasi

b. Metode dilusi padat/penapisan lempeng agar

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri dan diinkubasi. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Pratiwi, 2008). Hasil pengamatan KHM dibaca sebagai konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme, jika terlihat pertumbuhan bakteri tidak jelas atau kabur maka pertumbuhan bakteri dapat dibiakan (Soleha, 2015).



(Putri, 2016)

Gambar 2.9 : Hasil uji antibakteri dengan metode dilusi cair setelah

diinkubasi

